

Universitätsspital Zürich
Departement für Frauenheilkunde
Vorsteher: Prof. Dr. med. R. Zimmermann

Klinik für Geburtshilfe
Abteilungsleiter: Prof. Dr. med. R. Zimmermann

Arbeit unter Leitung von Dr. med. L. Schäffer und Prof. Dr. med. E. Beinder

**EINFLUSS DER LUNGENREIFUNGSINDUKTION AUF DIE
STRESSPHYSIOLOGIE BEI GESUNDEN NEUGEBORENEN**

INAUGURAL- DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Zürich

vorgelegt von
Franziska Luzi Michael
von Scheid GR

**Genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. med. R. Zimmermann
Zürich 2010**

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	3
1. Zusammenfassung.....	4
2. Einleitung.....	6
3. Probanden und Methode.....	9
3.1 Studienkollektiv.....	9
3.2 Probengewinnung.....	10
3.3 Analysen von Cortisol und Cortison im Speichel.....	13
4. Resultate.....	15
4.1 Klinische Daten des Studienkollektivs.....	15
4.2 Analyse der Stressreaktivität mittels Cortisol- und Cortison- Messungen.....	17
4.3 Verlauf der Cortisol- und Cortison- Kurven.....	18
4.4 Analyse möglicher Einflussfaktoren.....	23
5. Diskussion.....	24
6. Literaturverzeichnis.....	36
7. Danksagung.....	40
8. Lebenslauf.....	42

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
CRH	Corticotropin Releasing Hormon
GR	Glucocorticoid- Rezeptor
HPA- Achse	Hypothalamus- Hypophysen- Nebennieren- Achse
LRI	Lungenreifungsinduktion
MR	Mineralcorticoid- Rezeptor
p.m.	post menstruationem
PVN	Nukleus paraventricularis des Hypothalamus
SSW	Schwangerschaftswoche(n)
11 β - HSD 2	11 β - Hydroxysteroiddehydrogenase 2

1. Zusammenfassung

Hintergrund. Es besteht die Vermutung, dass eine erhöhte fetale Glucocorticoid- Exposition in utero einen permanenten Einfluss auf das Gleichgewicht und die Regulierung der fetalen Hypothalamus- Hypophysen- Nebennieren- Achsen – (HPA- Achsen-) Funktion haben könnte. Eine Veränderung des Gleichgewichts der HPA- Achse könnte dabei Auswirkungen auf verschiedene Organsysteme haben und zu der Entstehung von metabolischen und kardiovaskulären Erkrankungen führen. So sind veränderte Plasmacortisolwerte im Erwachsenenalter assoziiert mit dem Risiko für das Auftreten eines metabolischen Syndroms mit gestörter Glucosetoleranz, arterieller Hypertonie und Dyslipidämie. In der vorliegenden Studie wurde die Reaktivität des HPA- Achsen- Systems bei gesunden Neugeborenen analysiert, welche im Rahmen einer Lungenreifungsinduktion (LRI) wegen der Gefahr einer Frühgeburtlichkeit einer antenatalen Betamethason- Verabreichung ausgesetzt waren. Diese wurden mit Neugeborenen ohne pränatale Steroidexposition verglichen.

Methoden. Cortisol- und Cortisonwerte wurden im Speichel von Neugeborenen vor und nach einem Stressreiz gemessen. Als Stressreiz diente der schmerzhafteste Fersenstich einer routinemässigen Blutentnahme 72 bis 94 Stunden nach Geburt (Guthrie Test). Speichelproben von 23 Kindern mit Lungenreifungsinduktion und von 40 Kontrollen wurden in Ruhe und 20 Minuten nach dem Fersenstich entnommen und auf Cortisol- und Cortison- Konzentrationen analysiert.

Resultate. Während die Kontroll- Gruppe einen signifikanten Anstieg der Cortisol- und Cortison- Werte 20 Minuten nach dem Stressereignis als Zeichen einer normalen Stressreaktivität der HPA- Achse zeigte, war bei der LRI- Gruppe die Cortisol- und Cortison Ausschüttung deutlich reduziert. Mögliche Einflussfaktoren auf die Cortisolreaktion, wie das Gestationsalter, das Geburtsgewicht, der Zeitpunkt der Lungenreifungsinduktion und das Geschlecht zeigten keinen signifikanten Einfluss auf die Ergebnisse.

Interpretation. Gesunde Neugeborene, welche intrauterin eine einmalige Lungenreifungsinduktion mit 2x12mg Betamethason vor der 34. Schwangerschaftswoche (SSW) erhalten haben, zeigen noch 8 Wochen später eine signifikante Veränderung der physiologischen Reaktivität der HPA- Achse auf einen Stressreiz. Diese Ergebnisse geben Grund zu der Vermutung, dass bereits eine einmalige Lungenreifungsinduktion die HPA- Achsen- Aktivität dauerhaft verändern und somit einen Risikofaktor für die Entstehung von Erkrankungen im späteren Leben darstellen könnte.

2. Einleitung

Epidemiologische Untersuchungen geben Grund zu der Vermutung, dass fetale und frühe postnatale Umgebungsfaktoren einen signifikanten Einfluss auf die prä- und postnatale Entwicklung haben und strukturelle wie auch funktionelle Veränderungen verschiedener Regulationssysteme des Organismus verursachen, welche lebenslang persistieren (6, 46). Dieses Phänomen wird auch „fetale Programmierung“ genannt. Zu den Programmierungsmechanismen zählen vor allem eine Veränderung der endokrinen und neurohumoralen Regulation. Steroidhormone können aufgrund ihrer lipophilen Eigenschaften biologische Barrieren überwinden und üben wichtige organisatorische Effekte während der Entwicklung des Organismus aus (3, 25, 47).

Bereits vor 50 Jahren beschrieb Levine (32) die Möglichkeit einer Beeinflussbarkeit der HPA-Achsen- Funktion im Erwachsenenalter durch die frühkindliche Umgebung. In der Zwischenzeit konnte durch verschiedene Studien gezeigt werden, dass Plasmacortisolwerte im Erwachsenenalter direkt mit dem Geburtsgewicht und dem Risiko für eine gestörte Glucoseintoleranz, Hypertension und Dyslipidämie korrelieren (5, 34, 60). Im Hinblick auf diese Resultate wurde vermutet, dass die HPA- Achsen- Programmierung in utero mit der Entstehung von kardiovaskulären Erkrankungen, Insulinresistenz und Diabetes mellitus im späteren Leben in Verbindung steht (42, 59).

Weiter wurde postuliert, dass eine erhöhte Glucocorticoid- Exposition in utero eine Einwirkung auf die Programmierung der fetalen HPA- Achse haben könnte und somit zu einer permanent veränderten ruhe- und stressinduzierten HPA- Achsen- Aktivität und Regulation führt, welche lebenslange Auswirkungen haben könnte. Erhöhte Glucocorticoid- Expositionen in utero können durch maternalen Stress, durch eine verminderte plazentare Deaktivierung von mütterlichem Cortisol, wie z.B. bei Plazentainsuffizienz oder durch eine mütterliche Behandlung mit synthetischen Glucocorticoiden entstehen.

Etwa 5-10 % der schwangeren Frauen neigen zu Frühgeburtlichkeit (52). Diese Frauen werden zwischen der 24. und 34. Schwangerschaftswoche mit synthetischen Glucocorticoiden behandelt, um die neonatale Morbidität und Mortalität zu vermindern. In verschiedenen Studien konnte belegt werden, dass synthetische antenatale Glucocorticoide in diesen Fällen die Inzidenz eines schweren Atemnotsyndroms reduzieren können (12, 48), aber auch das Risiko für die Entstehung einer bronchopulmonalen Dysplasie (57), intraventrikulären Hämorrhagie (33), nekrotisierenden Enterocolitis (8) und Frühgeburtlichkeit assoziierten Mortalität (12, 48) signifikant vermindern.

Unter physiologischen Bedingungen erreichen nur geringe Mengen mütterlicher endogener Glucocorticoide den Fetus. Ein placentares Enzym, die 11 β - Hydroxysteroiddehydrogenase 2 (11 β - HSD 2), wandelt aktive endogene Glucocorticoide in inaktive Ketonprodukte um und schützt so den Fetus vor exzessiver Glucocorticoid- Exposition (9). Manche synthetische Glucocorticoide hingegen werden nicht durch die placentare 11 β - HSD 2 metabolisiert und gelangen in ihrer aktiven Form in den fetalen Kreislauf. Dies macht man sich für die fetale LRI zu Nutze, gleichzeitig könnte jedoch auch die Entwicklung der fetalen HPA- Achse auf Höhe des limbischen Systems, des Hypothalamus, der Hypophyse und der Nebennierenrinde beeinflusst werden.

Der Zeitpunkt der Reifung der HPA- Achse ist hoch Spezies- spezifisch und gekoppelt mit der zerebralen Entwicklung (18).

Glucocorticoide vermitteln verschiedene Schritte der normalen zerebralen Entwicklung des Feten. Eine Exposition des fetalen Gehirns gegenüber Glucocorticoidexzessen führt jedoch zumindest im Tierexperiment zu lebenslang anhaltenden Veränderungen der neuroendokrinen Funktion durch Veränderungen der zentralen Corticosteroidrezeptor- Regulation und Messenger- ribonucleid- acid Expression des Corticotropin Releasing Hormons (CRH- mRNA) im Nukleus paraventricularis (PVN) des Hypothalamus (10, 17, 35, 61).

Aus Studien an Tieren geht hervor, dass der Einfluss antenataler Glucocorticoide auf die HPA- Funktions- Programmierung vom Zeitpunkt der Verabreichung, der Dosierung sowie der Expositionszeit abhängt (61). Die Glucocorticoid- Expositionen sind dabei assoziiert mit altersabhängigen Änderungen der HPA- Achsen- Funktion (49). Weiter konnte gezeigt werden, dass Glucocorticoide zu geschlechtsspezifischen Veränderungen der HPA- Achsen- Funktion führen können (17, 37, 40).

Es existieren nur wenige experimentelle Studien am Menschen, welche die Wirkung antenataler Glucocorticoide auf die HPA- Achsen- Regulation analysieren. Diese wurden vor allem bei Frühgeborenen durchgeführt, welche zahlreichen Stress- und Einflussfaktoren im Rahmen der erforderlichen intensivmedizinischen Behandlungen exponiert waren und daher eine Differenzierung der Aetiologie von Veränderungen schwierig macht (15, 16, 21).

In der vorliegenden Arbeit wurde die HPA- Aktivität bei Neugeborenen untersucht, die in utero einer einmaligen LRI (2x12mg Betamethason) wegen der Gefahr einer Frühgeburtlichkeit ausgesetzt waren, dann aber doch erst später (>34 SSW geboren wurden). Es wurden Cortisol und Cortison im Speichel in Ruhe und nach einem Stressreiz (Fersenstich) analysiert und mit Proben von gleichaltrigen Neugeborenen ohne Glucocorticoidexposition verglichen. Eine postpartal persistierend gestörte HPA- Achsen- Aktivität bei Neugeborenen nach LRI könnte einen Risikofaktor darstellen, welcher bei der fetalen Programmierung von Erkrankungen im Erwachsenenalter beteiligt sein könnte.

3. Probanden und Methode

Die Durchführung dieser Studie erfolgte in der Frauenklinik des Universitätsspitals Zürich und wurde durch die eidgenössische Ethikkommission genehmigt. Die Teilnahme an der Studie erfolgte nach einer Aufklärung der Eltern und deren schriftlichen Einverständniserklärung.

3.1 Studienkollektiv

Probanden

Es wurden gesunde Neugeborene aus zwei verschiedenen Gruppen rekrutiert:

1. Normalgewichtige Neugeborene (Kontrolle)
2. Normalgewichtige Neugeborene mit Lungenreifungsinduktion (LRI)

In die Kontroll-Gruppe wurden gesunde Neugeborene eingeschlossen, welche nach der 34. SSW (> 238 Tage) und mit einem Geburtsgewicht zwischen der 10. und 90. Gewichtsperzentile geboren wurden. Für die LRI- Gruppe wurden ebenfalls gesunde Neugeborene, welche nach der 34. SSW mit einem Geburtsgewicht zwischen der 10. und 90. Gewichtsperzentile geboren wurden und zwischen der 24. und 34. SSW eine LRI erhalten hatten, eingeschlossen. Die LRI bestand aus einer mütterlichen Verabreichung von 2x12 mg Betamethason innerhalb von 24 Stunden.

Ausschlusskriterien

Neugeborene mit Fehlbildungen oder postpartalen Intensivmassnahmen sowie Kinder von Müttern mit Substanzabusus (Nikotin, Drogen, Alkohol) oder mütterliche HIV- oder Hepatitis C- Infektionen wurden nicht in die Studie mit aufgenommen.

Studiengruppen

Insgesamt wurden 40 normalgewichtige Kontrollkinder (Kontrolle) und 23 Neugeborene mit LRI analysiert.

3.2 Probengewinnung

Da die Konzentrationen für freies Cortisol und Cortison im Serum direkt mit den Konzentrationen im Speichel korrelieren, war es möglich durch eine nicht invasive Methode Cortisol- und Cortisonwerte direkt aus dem Speichel der Neugeborenen zu analysieren. Diese Korrelation konnte sowohl für Neugeborene als auch für Erwachsene gezeigt werden (11, 23, 27, 54, 63).

Untersuchungsbedingungen

Die Speichelproben wurden jeweils nach Stabilisierung von möglichen geburtsbedingten Cortisolschwankungen (26, 29, 51) zwischen der 72. und 96. Stunde nach Geburt entnommen. In dieser Zeitspanne wird routinemässig der Guthrie- Test (Heel Prick Test) durchgeführt. Dieser bei allen Neugeborenen routinemässig durchgeführte Test besteht aus einer Blutentnahme an der Ferse des Neugeborenen und dient der Früherkennung von verschiedenen Stoffwechselerkrankungen. Es konnte gezeigt werden, dass der schmerzhafteste Fersenstich ein adäquater Stressreiz für die Aktivierung der HPA- Achse beim Neugeborenen darstellt und beim gesunden Neugeborenen einen signifikanten Anstieg des Cortisolspiegels verursacht (36, 39). Obwohl durch Studien belegt ist (43, 45), dass sich der zirkadiane Rhythmus bei Kleinkindern erst nach einigen Lebenswochen einstellt, wurden die Speichelproben zwischen 8 Uhr Morgens und 13 Uhr Nachmittags entnommen, um potenzielle Schwankungen des Cortisolspiegels aufgrund des zirkadianen Rhythmus zu vermeiden. Da eine Kontamination der Speichelproben mit Muttermilch möglicherweise zu veränderten Cortisolwerten führen könnte (38), wurden die Probanden das letzte mal mindestens 30 – 60 Minuten vor der Probenentnahme gestillt. Gleichzeitig mit dem Guthrie-

Test wurde der Blutzuckerspiegel bestimmt, um eine gestörte Glucosehomeostase und eine damit einhergehende Sympathikusaktivierung auszuschliessen, welche allenfalls einen Cortisolanstieg bewirken könnte.

Ablauf

Bei jedem Neugeborenen wurden 2 Speichelproben entnommen. Zur Speichelgewinnung dienten Wattestäbchen mit einer leichten Verdickung im mittleren Bereich des Watteaufsatzes, sodass mehr Speichel aufgesaugt werden konnte im Vergleich zu konventionellen Watteträgern. Der Speichel wurde bei jeder Entnahme mit zwei nacheinander in den Mund des Kindes eingeführten Wattestäbchen gesammelt. Jede Probeentnahme erfolgte für 5 Minuten, wobei nach 2.5 Minuten das Wattestäbchen gewechselt wurde, damit genügend Speichel gewonnen werden konnte. Meist saugten die Neugeborenen an den Wattestäbchen, wodurch ihr Speichelfluss angeregt wurde. Durch Ausstreichen der Backentasche und unter der Zunge konnte die zu gewinnende Speichelmenge weiter erhöht werden. Für eine aussagekräftige Analyse musste eine Probe mindestens eine Speichelmenge von 100 Mikroliter beinhalten. Die erste Entnahme erfolgte in Ruhe, jeweils ca. 10 Minuten vor dem Stressreiz (Fersenstich) zur Bestimmung des Ausgangswertes (Ruhewert) und damit des Bezugswertes für die Analysen. 20 Minuten nach dem Fersenstich (Stressor) wurde die zweite Speichelprobe entnommen, da gezeigt werden konnte, dass der maximale Cortisolanstieg als Reaktion auf einen Stressreiz nach ca. 20 - 25 Minuten vorliegt (22). Der Versuchsablauf ist schematisch in Abb. 1 dargestellt. Während des Versuchs blieben die Neugeborenen in Ruhe und durften nicht stimuliert werden, wie zum Beispiel durch Wickeln, um sicher zu stellen, dass der Fersenstich den einzigen Stressor darstellte.

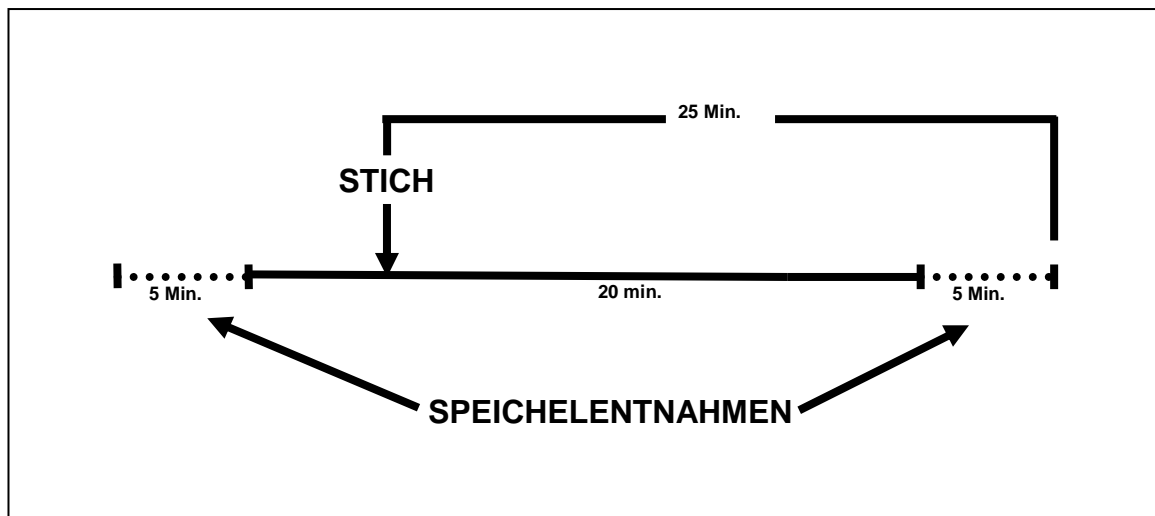


Abb. 1: Schematischer Ablauf der Speichelentnahmen

Die gewonnenen Speichelproben wurden in Salivettenröhrchen (SARSTEDT Nümbrecht, Deutschland – Abb.2) bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis zur Laboranalyse aufbewahrt.



Abb. 2: links: Speichelentnahme bei einem Neugeborenen; rechts: Wattestäbchen und Salivettenröhrchen

3.3 Analysen von Cortisol und Cortison im Speichel

Labormethode

Das chemische Labor der Kinderklinik Erlangen in Deutschland führte die Analyse der Cortisol- und Cortisonwerte aus dem Speichel durch. Die Bestimmung erfolgte mittels Flüssigkeitschromatographie / Tandem- Massenspektrometrie (liquid chromatography tandem mass spectrometry) mit chemischer Ionisierung unter Atmosphärendruck (APCI, atmospheric pressure chemical ionization) im positiven Ionisierungsmodus gemäß einer modifizierten Methode nach Rauh et al. (44).

100 µl der Proben und Kalibratoren wurden mit Methanol/Zink Sulfat (50 g/l, 1/1 v/v) deprotoniert. Nach Zentrifugation wurden die Überstände auf eine Festphasenextraktionssäule aufgebracht und anschliessend mittels HPLC Technik separiert (Extraktionssäule: Oasis HLB 2.1 * 20 mm, 15 µm, Waters, Milford, USA).

Die Proben wurden in 5% Methanol gewaschen und mittels back-flush mit 2 mM Ammoniumacetat / Methanol (30:70 v/v) auf die analytische Säule (Chromolith RP 18e100 * 4.6 mm, Merck, Darmstadt, Deutschland) mit einer Durchflussgeschwindigkeit von 1 ml/min eluiert. Analysen der Proben wurden mittels „Multiple Reaction Monitoring Mode“ mit einer Verweilzeit von 150 ms pro Kanal durchgeführt unter Verwendung der folgenden Übergänge für die Quantifizierung (qualifier transition): m/z 363.2/121.2 (363.2/309.4) cortisol, m/z 361.1/162.9 (361.1/239.0) cortisone, m/z 367.3/121.2 cortisol-d4.

Statistische Analysen

Die statistischen Analysen wurden mit dem Statistikprogramm STATA 9 (Stata Corporation, College Station, TX) durchgeführt, basierend auf den Empfehlungen von Altman für wiederholte Messungen (1). Die Grundcharakteristika der Kontroll- und der LRI- Gruppe wurde mittels dem Mann-Whitney Test und dem Chi- Quadrat Test entsprechend verglichen. Da basale Cortisolwerte bei Neugeborenen und Kindern stark interindividuell streuen (22), wurden absolute Werte und relative Veränderungen analysiert. Bei fehlender

Normalverteilung der Cortisol- und Cortisonwerte gemäss Shapiro- Francia W' test, wurde die interindividuelle Differenz der Ruhe- und 20 Minuten-Werte nach dem Stressreiz mit dem Wilcoxon signed rank Test analysiert. Der Mann- Whitney Test wurde zum Vergleich der Ruhewerte von Kontroll- und LRI- Gruppe angewendet. Um einen möglichen Einfluss des Gestationsalters, des Geburtsgewichts unabhängig vom Gestationsalter, des Geschlechts auf die Cortisolwerte zu erfassen, wurde eine stufenweise, multiple Regression durchgeführt. Schliesslich wurde die Korrelation der Cortisol- und Cortisonwerte in der Kontroll- und in der LRI- Gruppe mit dem Spearman Rank Test geprüft. Als statistisch signifikante Veränderung wurde $p < 0.05$ definiert.

4. Resultate

4.1 Klinische Daten des Studienkollektivs

Von den 40 Kontroll- Kindern waren 22 weiblich und 18 männlich. Bei den 23 LRI- Kindern waren 13 weiblich und 10 männlich. Das mediane Gestationsalter lag bei den Kontroll- Kindern bei 273 Tagen postmenstruationem (p.m.), bei den LRI- Kindern bei 266 Tagen p.m. Dieser Unterschied war statistisch nicht signifikant ($p= 0.2$). Das mediane Geburtsgewicht betrug bei der Kontroll-Gruppe 3288 g, das der LRI- Kinder 2950 g ($p= 0.269$). Von den Neugeborenen der Kontrollgruppe wurden 25 vaginal entbunden und 15 per Sectio cesarea. Bei den Neugeborenen mit LRI, wurden 12 vaginal und 11 per Sectio cesarea entbunden. Der Kopfumfang ($p= 0.583$) sowie die Apgar- Werte waren in beiden Gruppen vergleichbar und unterschieden sich nicht signifikant ($p= 0.066$ (1 min.), $p= 0.517$ (5 min) und $p= 1$ (10 min.)). Die ethnische Zugehörigkeit der Mütter der beiden untersuchten Gruppen war vergleichbar und nicht signifikant verschieden ($p= 0.314$). Auch der BMI der Mütter vor der Schwangerschaft ($p= 0.1$) sowie bei der Geburt ($p= 0.153$) waren in beiden Gruppen vergleichbar.

Die LRI wurde im Median am 203. Schwangerschaftstag, was der 29. SSW entspricht, durchgeführt. Das mediane Intervall zwischen dem Zeitpunkt der LRI und Geburt betrug 55 Tage (8 Wochen). Die LRI wurde bei 20 Müttern i. v., bei 2 Müttern p. o. verabreicht und bei einer Mutter war der Applikationsweg aus den Daten nicht eruierbar.

Maternale Infektionen während der Schwangerschaft konnten ausgeschlossen werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der klinischen Daten zwischen beiden Gruppen vorliegen, sodass eine Vergleichbarkeit der Studiengruppen gegeben ist.

Eine Zusammenstellung der klinischen Daten und Signifikanzen ist in Tabelle 1 und 2 dargestellt.

		KONTROLL- GRUPPE (n=40) (63.5%)	LRI- GRUPPE (n=23) (36.5%)	p
FETALE DATEN:				
		Absolute Anzahl	Absolute Anzahl	
Geschlecht	Knaben	18	13	0.907
	Mädchen	22	10	
		Median (Min/Max)	Median (Min/Max)	
Gestationsalter (d)		273 (240-294)	266 (242-284)	0.201
Geburtsgewicht (g)		3288 (2100-3780)	2950 (2220-3930)	0.269
Gewichtspersentile		52 (17.6-91.6)	39.2 (11.9-87.3)	0.617
Kopfumfang (cm)		34.5 (32.5-36.0)	34 (32.0-37.0)	0.583
Apgar- Werte	1 min	8 (3-9)	8 (2-9)	0.066
	5 min	9 (8-10)	9 (8-9)	0.517
	10 min	9 (7-10)	9 (9-10)	1
Tabelle 1: Fetale demographische Daten des Studienkollektivs				
cm= Centimeter. d= Tage. g= Gramm. p= Signifikanz.				

		KONTROLL- GRUPPE (n=40) (63.5%)	LRI- GRUPPE (n=23) (36.5%)	p
MATERNALE DATEN:				
		Absolute Anzahl	Absolute Anzahl	
Entbindungsmodus	vaginal	25	12	0.423
	Sectio	15	11	
Ethnizität	kaukasisch	30	17	0.314
	asiatisch	5	1	
	orientalisch	4	2	
	afro-karibisch	1	3	
		Median (Min/Max)	Median (Min/Max)	
Maternales Alter in Jahren		30 (18-39)	29 (23-37)	0.496
Parität		2 (1-4)	1 (1-3)	0.040
Hospitalisationsdauer in Tagen		0 (0-11)	8 (0-85)	<0.001
Zeitpunkt LRI (GT)			203 (173-235)	
Intervall LRI-Geburt (d)			55 (16-102)	
BMI vor Schwangerschaft		23 (16-38.6)	21.3 (18.3-36.9)	0.100
BMI bei Geburt		27.7 (23.7-41.9)	26.2 (21.8-39)	0.153
Tabelle 2: Maternale demographische Daten des Studienkollektivs				
d= Tage. g= Gramm. GT= Gestationstage. p= Signifikanz.				

4.2 Analyse der Stressreaktivität mittels Cortisol- und Cortison- Messungen

Tabelle 3 zeigt die Resultate der Messungen für Cortisol und Cortison in Ruhe und 20 Minuten nach dem Stressreiz. Aufgrund der in der Literatur bekannten, hohen interindividuellen Streuung der Cortisolwerte bei unterschiedlichen Individuen, ist für die absoluten Messwerte der Median mit range angegeben sowie die mediane relative Veränderung der Werte nach Stressinduktion. Zum Ausschluss einer durch LRI induzierten veränderten Konversionsrate des wirksamen Cortisols in das unwirksame Cortison durch die 11 β - Hydroxisteroid- Dehydrogenase und dadurch potenziell beeinflussten Veränderung des Cortisolspiegels bei LRI- Kindern, wurden sowohl Cortisol- als auch Cortison- Werte gemessen.

	RUHEWERT		20- MINUTEN- POST STRESS	
	M rel.	M abl. ng/ml (min/max)	M rel.	M abl. ng/ml (min/max)
CORTISOL				
Kontroll- Gruppe	1	1.175 (0.09/15.7)	1.9*	2.4* (0.03/12.2)
LRI- Gruppe	1	1.39 (0.09/9.82)	0.7	1.6 (0.20/11.3)
CORTISON				
Kontroll- Gruppe	1	11.35 (5.83/44.3)	1.244*	18.15* (2.80/43.1)
LRI- Gruppe	1	14.8 (2.70/36.0)	1.008	17.10 (7.00/32.9)

Tabelle 3: Cortisol- und Cortisonwerte in Ruhe und nach Stressreiz
M rel. = Median der relativen Werte. M abl. = Median der absoluten Werte. *p= Signifikanz (verglichen mit Messung in Ruhe)

4.3 Verlauf der Cortisol- und Cortison-Kurven

In Abbildung 3 und 4 sind die individuellen absoluten Cortisol- und Cortisonverläufe jedes einzelnen Neugeborenen der Kontroll-Gruppe in Ruhe (Basiswert) und 20 Minuten nach Stressinduktion (Heel Prick Test) dargestellt. Es zeigt sich bei starker individueller Streuung der Ruhewerte, dass die Mehrheit der Neugeborenen aus dieser Gruppe mit einem Anstieg der Cortisol- und Cortisonwerte auf den Stressreiz reagieren und es zu einem signifikanten Anstieg des Medians kommt.

Absolute Cortisol- Werte der Kontrollgruppe:

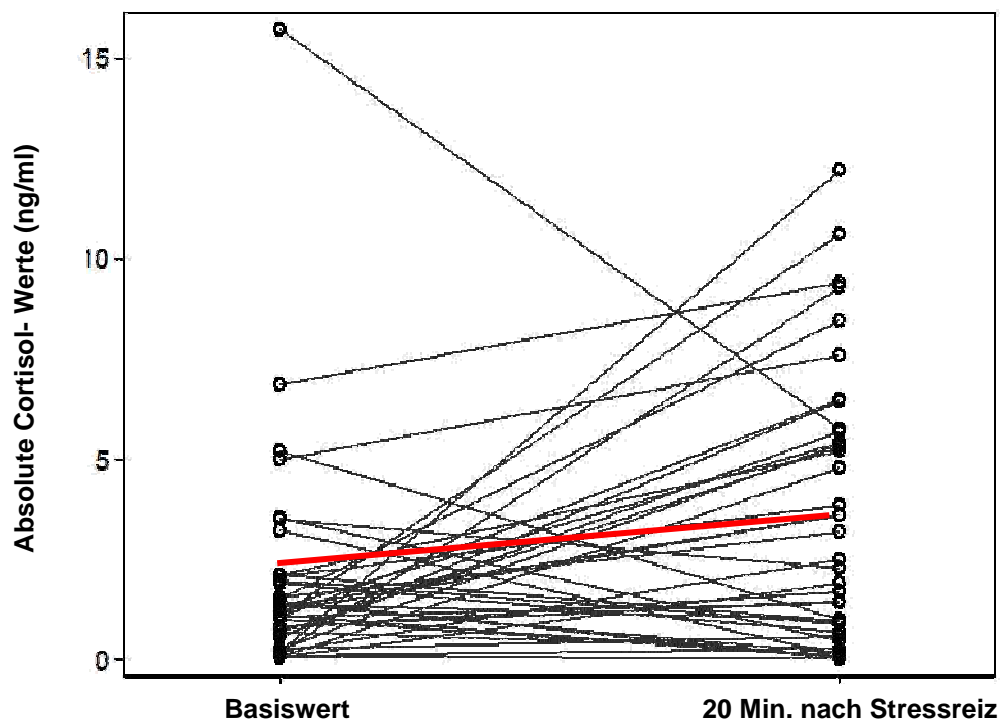


Abb 3: Individuelle absolute Cortisol- Werte sowie Median der absoluten Werte (—) der Neugeborenen der Kontroll-Gruppe vor und 20 Minuten nach dem Stressreiz.

Absolute Cortison- Werte der Kontrollgruppe:

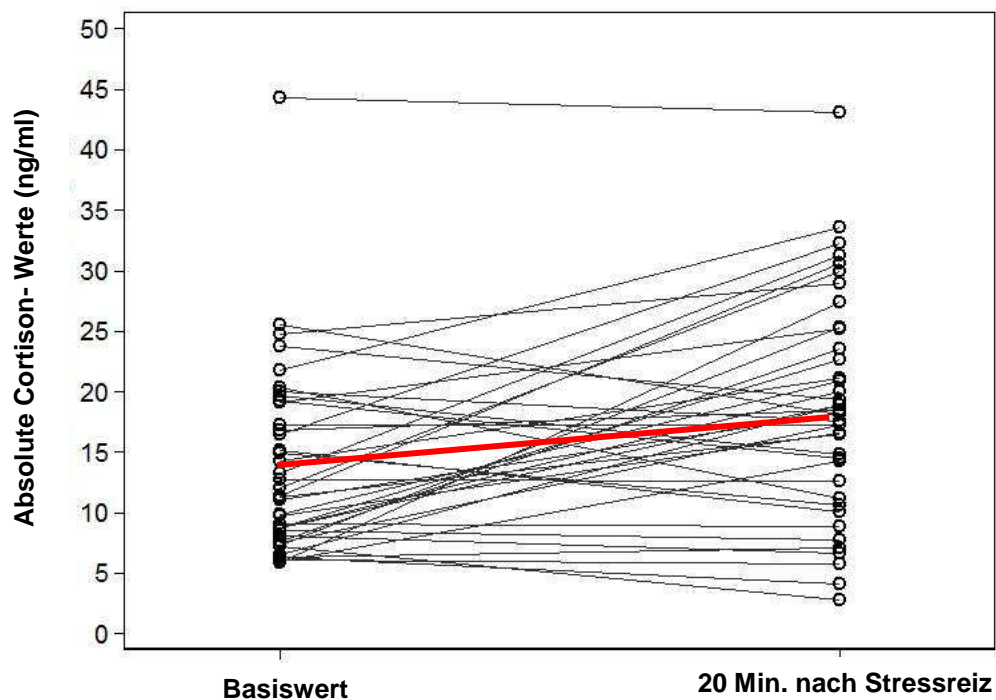


Abb. 4: Individuelle absolute Cortison-Werte sowie Median der absoluten Werte (–) der Neugeborenen der Kontroll-Gruppe vor und 20 Minuten nach dem Stressreiz.

Abbildung 5 und 6 zeigen absolute Cortisol- und Cortisonwerte jedes einzelnen Neugeborenen der LRI- Gruppe in Ruhe (Basiswert) und 20 Minuten nach dem Stressreiz. Es zeigt sich erneut eine hohe individuelle Streuung der Ruhewerte wobei die Mehrheit der Neugeborenen aus der LRI- Gruppe keinen wesentlichen Anstieg der Cortisol- und Cortisonwerte, sondern allenfalls einen leichten Anstieg oder häufig sogar eher einen Abfall der Cortisol- und Cortisonwerte 20 Minuten nach dem Stressreiz zeigen, der mediane Anstieg ist deutlich geringer als bei der Kontrollgruppe (vergl. auch Tabl. 3) und zeigt keinen signifikanten Unterschied.

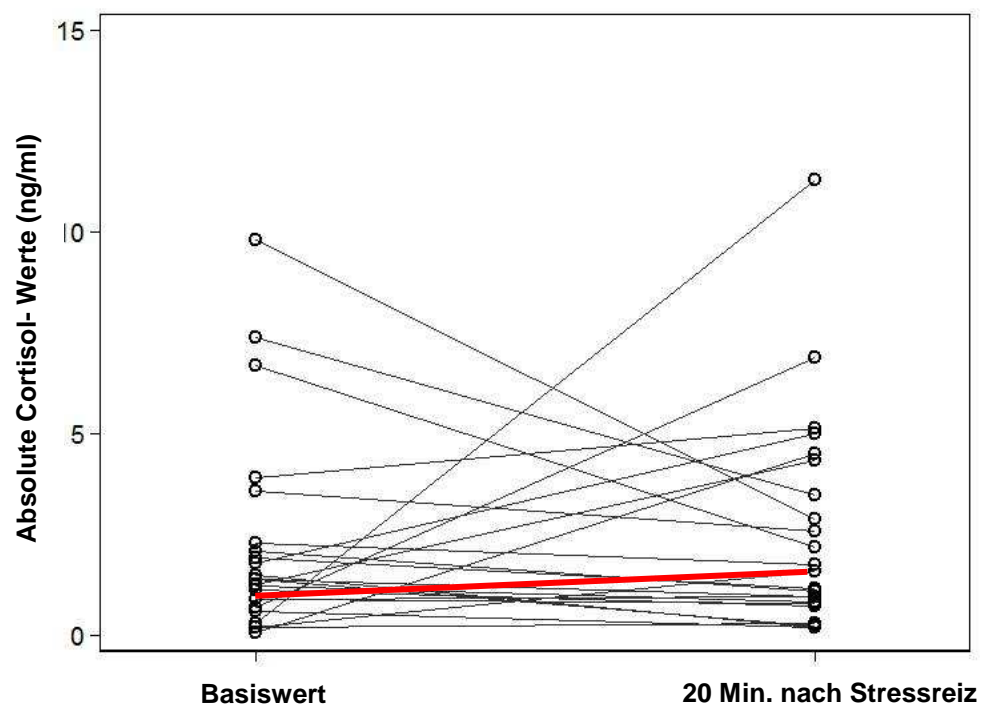
Absolute Cortisol- Werte der LRI- Gruppe:

Abb. 5: Individuelle absolute Cortisol- Werte sowie Median der absoluten Werte (—) der LRI-Neugeborenen vor und 20 Minuten nach dem Stressreiz.

Absolute Cortison- Werte der LRI- Gruppe:

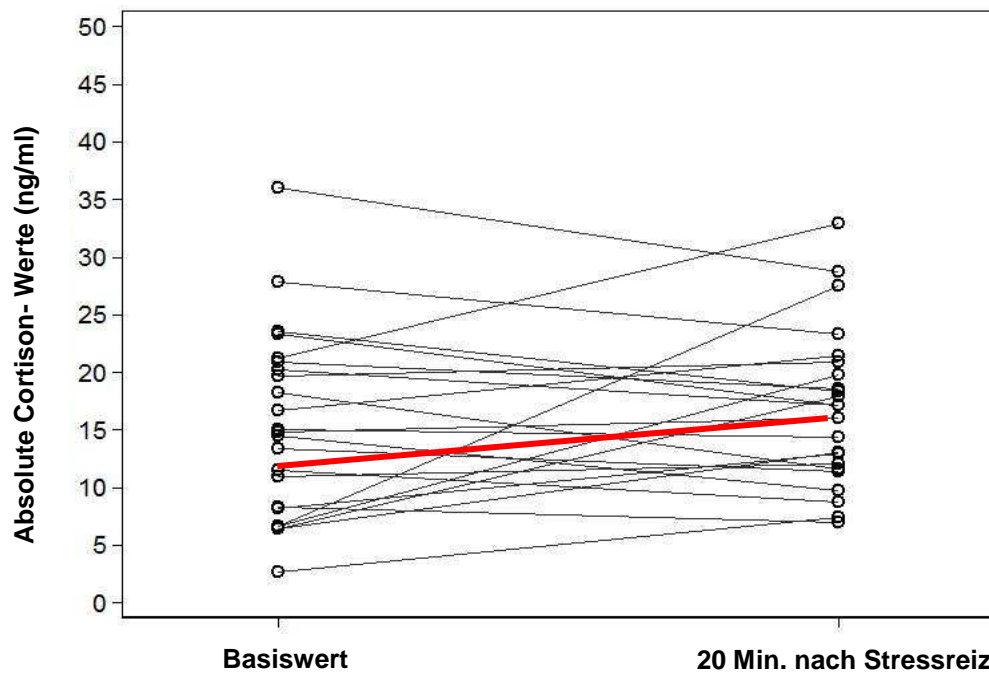


Abb. 6: Individuelle absolute Cortison- Werte sowie Median der absoluten Werte (—) der LRI-Neugeborenen vor und 20 Minuten nach dem Stressreiz.

Wie erwartet und in der Literatur beschrieben, kam es bei der Kontroll-Gruppe 20 Minuten nach dem Stressreiz (Heel Prick Test) zu einem signifikanten Anstieg der Cortisol- ($p= 0.015$) und Cortisonwerte ($p= 0.004$). Im Gegensatz dazu, war bei den LRI- Neugeborenen die Stressantwort deutlich reduziert und es konnte kein signifikanter Anstieg der Cortisol- ($p= 0.761$) und der Cortisonwerte ($p= 0.6926$) 20 min. nach dem Stressreiz nachgewiesen werden.

Zur besseren Einschätzung der Messdaten und übersichtlicheren Darstellung wurde der Median der individuellen relativen Veränderungen zwischen Ruhewert und Stressantwort jedes Probanden in beiden Versuchsgruppen bestimmt (Abb. 7 und 8).

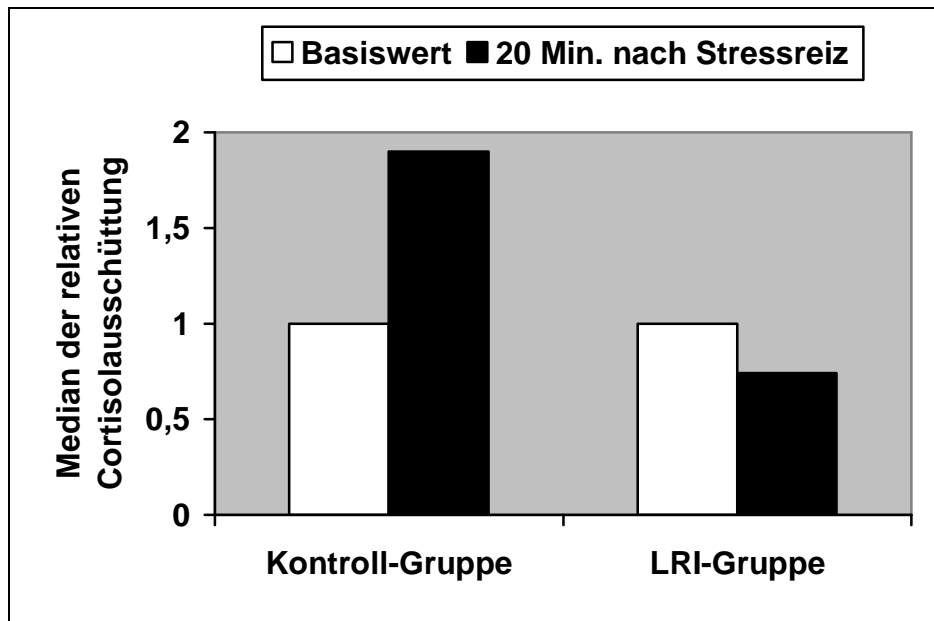


Abb. 7: Median- Werte der relativen individuellen Cortisolreaktion in Abhängigkeit vom Stressreiz.

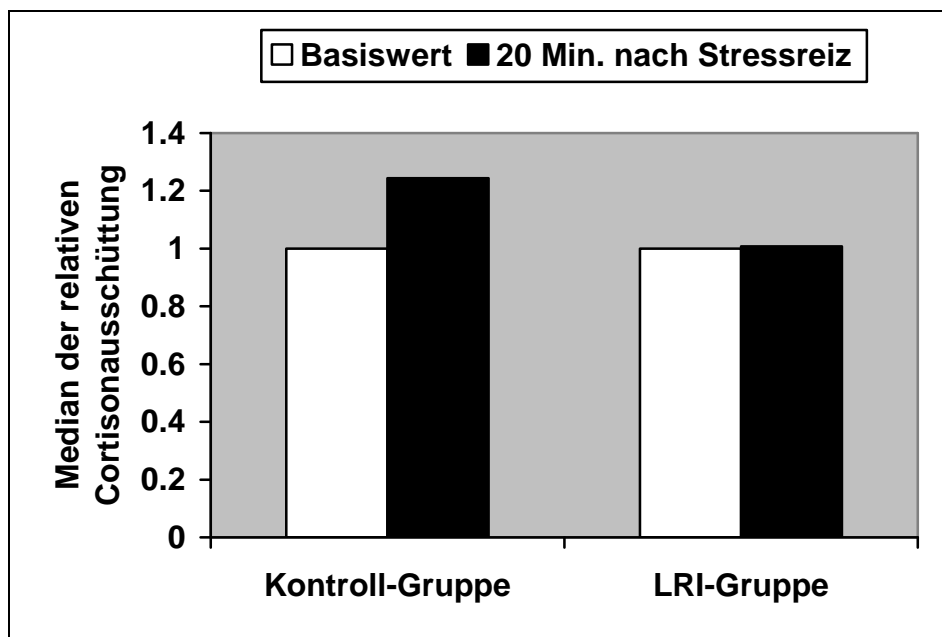


Abb. 8: Median- Werte der relativen individuellen Cortisonreaktion in Abhängigkeit vom Stressreiz.

Die Darstellung zeigt eindrücklich, dass die Kontrollgruppe mit einem deutlichen Anstieg der Cortisol- und Cortisonwerte auf den Stressreiz reagiert, während es bei den Neugeborenen mit LRI tendenziell eher zu einem Abfall des Cortisolspiegels und einem unveränderten Cortisonspiegel nach Stressinduktion kommt.

4.4. Analyse möglicher Einflussfaktoren

Zur Beurteilung möglicher relevanter Einflussfaktoren auf die Cortisol- und Cortison-Reaktion wurde eine multiple schrittweise Regressionsanalyse durchgeführt, welche das Gestationsalter, das Geschlecht sowie das Geburtsgewicht unabhängig vom Gestationsalter einschloss. Keiner dieser Faktoren zeigte einen signifikanten Einfluss ($p = 0.9686$, $p = 0.7011$, $p = 0.9549$) auf die Stressreaktion der Neugeborenen in unserem Kollektiv.

Zum Ausschluss der Möglichkeit, dass die verminderte Cortisolantwort der LRI- Gruppe das Resultat einer erhöhten Konversion von Cortisol in Cortison zumindest zum Teil verursacht sein könnte, wurde eine Korrelationsanalyse der Cortisol- und Cortisonwerte sowohl in der Kontroll- als auch in der LRI- Gruppe durchgeführt. Der mediane Basiswert für Cortisol und Cortison unterscheidet sich nicht signifikant zwischen der Studiengruppe und der Kontrollgruppe (1.39 ng/ml (0.09-9.82) vs. 1.175 ng/ml (0.09-15.7) für Cortisol, $p = 0.42$; 14.8 ng/ml (2.6-36) vs. 11.35 ng/ml (5.83-44.3) für Cortison, $p = 0.34$, retrospektiv). Aufgrund des gleichläufigen Verlaufs innerhalb der Versuchsgruppen, kann eine signifikante Beeinflussung der Ergebnisse durch eine veränderte Konversionsrate ausgeschlossen werden (19).

Auch konnten maternale Infektionen während der Schwangerschaft in beiden untersuchten Gruppen ausgeschlossen werden, welche sich möglicherweise auf die Cortisol- und Cortisonwerte der untersuchten Neugeborenen ausgewirkt hätten.

Weiter konnte eine maternale Einnahme von Medikamenten mit Ausnahme von Tokolytika während der Schwangerschaft ausgeschlossen werden.

5. Diskussion

Unsere Ergebnisse zeigen, dass gesunde Neugeborenen (Kontrollgruppe) am 4. postpartalen Tag mit einer physiologischen Aktivierung der HPA- Achse auf einen Stressreiz im Sinne einer signifikanten Cortisolausschüttung reagieren. Im Gegensatz dazu ist bei Neugeborenen, welche eine einmalige LRI zwischen der 24. bis 34. SSW mit Betamethason erhalten hatten, die HPA Achsen vermittelte Stressreaktivität signifikant reduziert, sodass eine adäquate Cortisolausschüttung nicht stattfindet, was auf eine supprimierte HPA- Achsen- Reaktivität schliessen lässt.

Befunde aus der Literatur geben Grund zu der Annahme, dass antenatale Glucocorticoide einen Einfluss auf die Aktivität der HPA- Achse haben könnten. So konnte in einer Gruppe von Frühgeborenen (n=9) der 33. - 34. SSW gezeigt werden, dass eine antenatale Betamethason- Exposition (2x12 mg im Abstand von 12 Stunden) die HPA- Achsen- Antwort auf einen Stressreiz am 3. – 6. postnatalen Tag unter den Bedingungen einer neonatalen Intensivstation signifikant vermindert (15). Die Neugeborenen zeigten 20 Minuten und 40 Minuten nach einem Stressreiz (Fersenstich) statt einen Anstieg, einen Abfall der Cortisolwerte. Die Vergleichsgruppe, welche keiner Betamethason- Exposition ausgesetzt war, reagierte wie erwartet mit einem Anstieg der Cortisolwerte.

In einer weiteren Studie konnten die gleichen Autoren (16) in einem Kollektiv von 14 Frühgeborenen, der 28. - 30. SSW ebenfalls zeigen, dass eine antenatale Betamethasonexposition einen suppressiven Effekt auf die HPA- Achsen- Reaktivität induziert. So zeigten diese Frühgeborenen sowohl postpartal, wie auch 4 - 6 Wochen nach der Geburt eine deutlich verminderte Cortisolreaktion auf einen Stressreiz. Es ist jedoch einschränkend zu bemerken, dass in dieser Studie die Studiengruppe mit einem Kontrollkollektiv verglichen wurde, welches 4-6 Wochen später, in der 33.-34. SSW, geboren wurde. Demnach ist eine Vergleichbarkeit der Studiengruppen nicht gegeben und potentielle

Effekte einer frühen Frühgeburtlichkeit an sich, wie auch der Einfluss damit verbundener Intensivmassnahmen können nicht ausgeschlossen werden.

Glover et al. (21) untersuchten bei 45 Frühgeborenen (< 32 SSW) welche pränatal wiederholt Glucocorticoiden ausgesetzt waren, 4 und 12 Monate postnatal die Cortisol-Stressantwort auf eine Routine- Impfung. Von den Müttern hatten 31 Frauen 1 - 16 Dosen Betamethason, 5 Frauen 1 - 4 Dosen Dexamethason, 5 Frauen Betamethason und Dexamethason und 9 der Kinder zusätzlich postnatale Steroide erhalten. Es konnte gezeigt werden, dass der mittlere basale Cortisolwert dieser Frühgeborenen innerhalb der ersten 4 Wochen 5 - 6 mal höher war, als publizierte Werte gleichaltriger intrauterin verbleibender Feten. Antenatale Steroide waren im Alter von 4 Monaten signifikant mit erhöhten basalen Cortisolwerten assoziiert und führten zu einer signifikant verminderten Cortisol- Antwort auf einen Stressreiz (Impfung). Interessanterweise reagierten alle Neugeborenen 12 Monate postnatal mit einer verminderten Cortisolantwort auf den gleichen Stressreiz ohne eine signifikante Assoziation mit pränatalen Steroidexpositionen. Eine Veränderung der HPA-Achsen- Aktivität im Zeitraum des ersten Lebensjahrs ist ein bekanntes Phänomen (24), dessen Ursache bisher jedoch unklar ist.

Auch bei dieser Studie ist zu berücksichtigen, dass es sich bei dem untersuchten Kollektiv um Frühgeborene < 32 SSW handelt, welche unter intensivmedizinischer Betreuung mit diversen Co- Morbiditäten untersucht wurden, sodass die Autoren andere potentielle Einflüsse auf die HPA- Achsen- Reaktivität nicht ausschliessen konnten. Eine Kontrollgruppe ohne Steroidexposition lag zudem nicht vor.

HPA- Achse bei Erwachsenen nach pränataler Glucocorticoidexposition

Bisher sind keine Studien durchgeführt worden, welche spezifisch die antenatale Glucocorticoidwirkung auf die HPA- Achsen- Funktion im Kindes- und Erwachsenenalter untersuchten.

Es wurden jedoch verschiedene Studien durchgeführt, welche die Wirkung pränataler Corticosteroide auf die allgemeine Morbidität von Kindern und Erwachsenen analysierten.

In einer Studie von Dalziel et al. (14) konnten keine klinischen Effekte einer einmaligen pränatalen Betamethason- Exposition auf kardiovaskuläre Risikofaktoren im Alter von 30 Jahren, vor allem bei Frauen, nachgewiesen werden. Es wurden jedoch Anzeichen für Insulinresistenzen festgestellt: Nach einem oralen 75 g Glucosetoleranztest zeigten die Probanden, welche in utero Betamethason ausgesetzt waren, signifikant höhere Plasmainsulinkonzentrationen nach 30 Minuten und signifikant niedrigere Glucosekonzentrationen nach 120 Minuten als jene, welchen in utero einem Placebo ausgesetzt waren.

Leider wurde keine spezifische Analyse der Wirkung der antenatalen Glucocorticoide auf die HPA- Achse und deren Reaktivität im Erwachsenenalter durchgeführt. Es wurden lediglich die morgendlichen Plasmacortisolwerte bestimmt. Diese unterschieden sich nicht signifikant von jenen, die keinen antenatalen Glucocorticoiden exponiert waren. Eine konklusive Beurteilung der HPA- Achsen- Entwicklung setzt jedoch insbesondere eine Analyse der Reaktivität voraus.

In einer weiteren Studie der gleichen Autoren zeigten sich ferner keine signifikanten Effekte antenataler Glucocorticoide auf die kognitive Funktion, das Gedächtnis, die psychiatrische Morbidität, die Händigkeit oder auf die Lebensqualität der Probanden (13). Es ist jedoch nicht auszuschliessen, dass weitere Effekte veränderter Regulationsmechanismen sich erst im späteren Lebensalter in klinisch manifesten Pathologien zeigen.

Es sind jedoch bereits auch Zeichen früher potentieller Veränderungen beschrieben: So konnte French et al. (20) in einer retrospektiven Studie zeigen, dass multiple Betamethason- Expositionen in utero bei 3- und 6- jährigen Kindern zu einem erhöhten Risiko für das Auftreten von aggressiven Verhaltens führten. Es wird diskutiert, dass das kindliche

Verhalten durch die fetale Umgebung beeinflusst sein könnte und die HPA- Achse dabei eine Rolle spielen könnte.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die bisherigen Analysen am humanen Kollektiv allenfalls Hinweise auf einen potentiellen Einfluss antenataler Steroidexpositionen auf die HPA- Achsen- Regulation liefern, die jedoch entweder durch zahlreiche zusätzliche Einflussfaktoren oder nicht ausreichende Analysen eine konklusive Beurteilung des tatsächlichen Einflusses der LRI auf die HPA- Achse schwierig machen. Als potentielle nicht kontrollierte Einflussfaktoren kommen insbesondere die Frühgeburtlichkeit per se, unterschiedliche Regimes der Durchführung der LRI mit unterschiedlich häufigen Dosen und verschiedenen Glucocorticoiden, der fehlende Ausschluss von Noxen wie beispielsweise Nikotin sowie die Verwendung unterschiedlicher Tests zur Beurteilung der HPA- Achsen- Reaktivität in Frage. Ferner findet bei Frühgeborenen ein erheblicher Anteil der HPA- Achsen- Entwicklung in einer extrauterinen Phase statt und es kann nicht ausgeschlossen werden, dass diese Bedingungen per se die Entwicklung anders beeinflussen, als wenn die Entwicklung unter intrauterinen Bedingungen stattfinden würde. Vor diesem Hintergrund tragen die Analysen der vorliegenden Arbeit massgeblich zum Verständnis der pränatalen Beeinflussung der HPA- Achse durch Glucocorticoide bei, da ein gesundes Kollektiv gewählt wurde, welches frei von Einflussfaktoren wie Frühgeburtlichkeit und damit assoziierten Intensivmassnahmen sowie auch Noxen ist.

Molekulare Mechanismen der veränderten HPA- Achsen- Reaktivität am Tiermodell

Verschiedene Tiermodelle zeigen, dass synthetische Glucokortikoide in der Schwangerschaft die Plazenta und die fetale Blut- Hirnschranke passieren und die fetale HPA- Achsen- Entwicklung beeinflussen, was zu einer veränderten HPA- Achsen- Funktion führt, welche im extrauterinen Leben persistiert (28). Als molekulare Mechanismen dieser Veränderungen werden die Modulationen von Glucocorticoid- Rezeptoren (GR) und

Mineralcorticoid- Rezeptoren (MR) auf Höhe des limbischen Systems, des Hypothalamus und der Nebenniere diskutiert. Anders als endogene Glucocorticoide binden synthetische Glucocorticoide vorzugsweise an GR- Rezeptoren, während MR- Rezeptoren eine geringe Affinität für exogene Glucocorticoide aufweisen (30). So konnte gezeigt werden, dass eine einmalige Verabreichung von antenatalem Betamethason bei Ratten zu einer Verminderung der GR- Expression im Hippocampus führt (58). Weiter wurden auch Rezeptorveränderungen auf der Höhe des limbischen Systems des Hippocampus, der Amygdala und des Nukleus paraventricularis beschrieben (46, 61). Knock- out- Mäuse mit einer GR- Deaktivierung im Zentralen Nervensystem weisen eine gestörte HPA- Achsen- Regulation mit erhöhten Glucocorticoidwerten auf und zeigen eine verminderte Stress- Antwort, sowie ein vermindertes Angstgefühl (53). Antenatale Glucocorticoide scheinen zudem bei Affen die Aktivität zytoskeletaler Proteine sowie der präsynaptischen Markerproteine zu vermindern und damit die neuronale Entwicklung und Funktion zu beeinflussen (2). Weiter konnte gezeigt werden, dass pränatal verabreichte Glucocorticoide bei Primaten zu strukturellen und morphologischen Veränderungen im Hippocampus und zu einem erhöhten Set- Point für basale und stressinduzierte Cortisolwerte führten, welche bis mindestens 9 Monate postpartal persistieren (55).

Welberg und Seckl (62) untersuchten den Einfluss der Dosierung und der Expositionszeit pränataler Glucocorticoide auf die HPA- Achsen- Funktion bei Ratten. Erwachsene männliche Ratten, deren Mütter in der letzten Gestationswoche synthetischen Glucocorticoiden ausgesetzt waren, wiesen reduzierte hippocampale GR- und MR- Rezeptor- Expressionen auf, aber keine Änderungen der GR- Expression im Nukleus paraventricularis des Hypothalamus (PVN). Die reduzierte hippocampale Glucocorticoid- Feedback- Sensitivität in diesen Tieren war assoziiert mit erhöhten CRH mRNA- Werten im PVN und einer allgemeinen Elevation der HPA- Aktivität. Im Gegensatz dazu zeigten die Tiere jener Mütter, welche täglich während der Schwangerschaft mit synthetischen Glucocorticoiden behandelt wurden keine Veränderung der Glucocorticoidrezeptoren im

Hippocampus, aber eine erhöhte MR- und GR- mRNA- Expression im basolateralen Nucleus der Amygdala. Die CRH mRNA Expression im zentralen Nucleus der Amygdala war in beiden Gruppen signifikant erhöht.

Die Autoren kamen daher zu dem Schluss, dass der Mechanismus, welcher das HPA- Achsen- Gleichgewicht beeinflusst, von der Dosierung und der Expositionszeit der Glucocorticoide abhängen müsse.

In einer Studie von Burlet et al. (10) wurde gezeigt, dass neugeborene Ratten, deren Mütter mit fünf Dexamethason- Injektionen (vom 15. – 19. Gestationstag bei einer Schwangerschaft von 21 - 22 Tagen) behandelt wurden, am ersten postnatalen Tag einen verminderten immunreaktiven Gehalt an Corticotropin- releasing- hormone- (CRH) mRNA des Nucleus paraventricularis aufwiesen. Dies resultierte in einer verminderten HPA- Achsen- Aktivität und es konnten signifikant verminderte Adrenocorticotropin- (ACTH) und Corticosteroidwerte nachgewiesen werden. Die Autoren folgerten daher, dass antenatale Glucocorticoide bei Ratten bereits ab dem ersten Lebenstag zu Veränderungen der HPA- Achsen- Aktivität führen, welche für eine unklare Zeit persistieren.

Levitt et al. (35) untersuchten die HPA- Achsen- Funktion bei 16 Wochen alten Ratten, deren Mütter repetitive antenatale Dexamethasongaben (Tag 15 - 20) erhielten. Die Tiere zeigten im Gegensatz zu gleichaltrigen Ratten ohne antenale Glucocorticoide signifikant höhere Blutdruckwerte, eine permanent verminderte GR- und MR- mRNA- Expression in spezifischen hippocampalen Feldern sowie erhöhte basale Plasmacortisolwerte. Die Cortisolantwort auf Stress fiel bei beiden Gruppen hingegen gleich aus.

Diese Ergebnisse lassen darauf schliessen, dass eine Glucocorticoidexposition im letzten Trimester der Schwangerschaft bei erwachsenen Ratten zu erhöhten basalen Cortisolwerten sowie permanent veränderter GR- und MR- mRNA- Expression im Hippocampus führen, was mit einer verminderten Glucocorticoid- Feedback- Sensitivität zusammenhängen könnte.

In einer Studie von Sloboda et al. (49) konnte gezeigt werden, dass pränatale Glucocorticoid-Expositionen bei Schafen mit altersabhängigen Änderungen der HPA- Funktion assoziiert sind. Eine einzelne mütterliche Betamethasoninjektion am 104. Gestationstag hatte keinen signifikanten Effekt auf die HPA- Funktion des 6 Monate alten Nachwuchses, führte jedoch im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv zu einer signifikanten Erhöhung der basalen und stimulierten Plasmacortisolwerte nach 12 Monaten. Die Autoren postulierten, dass bei Schafen zwischen dem 6. Monat und dem 1. Lebensjahr die HPA- Achse eine Entwicklung durchmacht, welche durch pränatale Glucocorticoide beeinflusst werden kann.

Die gleiche Gruppe (50) untersuchte die HPA- Achsen- Aktivität von 2- und 3- jährigen Schafen, die in utero einer einmaligen oder multiplen Glucocorticoidexpositionen ausgesetzt waren. Im Alter von 2 und 3 Jahren wurden die basalen ACTH- und Cortisolwerte sowie die Werte nach Stimulation mit einem CRH- und Argininvasopressin- Test bestimmt. Es zeigte sich, dass signifikante Effekte nur bei den Tieren mit mehrfachen Betamethasoninjektionen, nicht jedoch bei denen mit einer einmaligen mütterlichen Betamethasoninjektion auftraten. So zeigten diese Tiere im Alter von 3 – nicht jedoch von 2 Jahren signifikant supprimierte basale und stimulierte Cortisolwerte.

Der Grund für diese unterschiedlichen Ergebnisse nach 2 und 3 Jahren ist unklar. Eine mögliche Erklärung könnte eine durch pränatale Einflüsse postnatal induzierte Veränderung der Entwicklungsdynamik der HPA- Achse darstellen, welche erst mit zunehmender Lebensdauer zum Tragen kommt.

Eine direkte Übertragung der hier vorgestellten Ergebnisse aus den Tiermodellen ist grundsätzlich problematisch, da die Entwicklung der HPA- Achse als speziesspezifisch angesehen wird und insbesondere bei Nagetieren diese Entwicklung zum Teil postpartal stattfindet, sodass pränatale Einflüsse nur bedingt vergleichbar sind.

Untersuchungen an Primaten, welche der humanen Situation näher kommen würden, sind nur vereinzelt vorhanden. So zeigt eine Studie mit Rhesus Affen, deren Mütter am 132-133

Gestationstag mit Dexamethason (5mg/kg Körpergewicht) behandelt wurden 9 Monate postnatal signifikant höhere basale Plasmacortisolwerte sowie ungewöhnlich hohe Cortisolantworten auf einen Stressreiz (Isolation für 30 Minuten von der Mutter in einem dunklen Käfig) welche signifikant länger persistierten als bei Kontrolltieren deren Mütter mit einem Placebo behandelt wurden (55). Als Mechanismus für diese Effekte konnte histologisch nachgewiesen werden, dass die Glucocorticoide irreversible Defekte der Hippocampusneuronen verursachten. Es wurde postuliert, dass bei einer Mangelfunktion des Hippocampus durch irreversible Defekte, hervorgerufen durch antenatale Glucocorticoide, der negative Feedback-Mechanismus des Hippocampus gestört sein könnte, was zu erhöhten Cortisolwerten führen würde.

Bereits in einer vorgängigen Studie hatten Uno et al. (56) gezeigt, dass antenatale Dexamethasonbehandlungen bei Rhesus Affen dosisabhängig zu Neuronendegenerationen im Hippocampus und zu einem reduziertem hippocampalen Volumen führen, welche bis mindestens zum 20. Lebensmonat persistieren.

Einzelne versus multiple antenatale Glucocorticoide

Die Applikationsfrequenz antenataler Glucocorticoid- Gaben scheint einen erheblichen Einfluss auf die HPA- Achse zu haben. Beim Menschen untersuchten Ashwood et al. (4) an Frühgeborenen den Effekt einer singulären - versus einer wöchentlichen LRI. Während die Serumcortisolkonzentrationen im Nabelschnurblut, wie auch die basalen Cortisolwerte im Speichel am 3. postpartalen Tag vergleichbar waren, war bei den Kindern mit mehrfacher LRI die Cortisolantwort auf einen Stressreiz signifikant vermindert. Zudem waren die basalen Cortisolwerte nach mehrfacher LRI am 7. postpartalen Tag signifikant niedriger als nach einmaliger LRI. Dieser Unterschied war jedoch am 14. und 21. postpartalen Tag nicht mehr nachweisbar. Die Autoren dieser Studie postulierten daher, dass dieser Effekt eher transient sei. Langzeituntersuchungen liegen jedoch nicht vor. Leider gab es in dieser Studie kein Kontrollkollektiv ohne LRI, sodass der Effekt einer einmaligen LRI nicht interpretiert werden kann. So zeigte die bereits erwähnte Studie von Sloboda et al. (50) am Schafmodell, dass

multiple antenatale Glucocorticoidexpositionen bei 3- jährigen nicht jedoch bei 2- jährigen Schafen zu einer Suppression HPA- Achsen- Aktivität führt.

Im Gegensatz dazu konnten Battin et al. (7) bei 86 Frühgeborenen, welche zwischen der 30. und 34. Woche geboren wurden, keine signifikanten Unterschiede der HPA- Achsen- Aktivität bei Frühgeborenen am 2.- 3. postnatalen Tag zwischen einer einzelnen und einer repetitiven LRI finden. Es unterschieden sich weder die basalen Plasmawerte für Cortisol und ACTH noch die Cortisolantwort auf einen Stimulationstest.

Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass auch diese Gruppe lediglich den Einfluss einer singulären versus multiplen Glucocorticoidexposition untersuchte und kein Kollektiv vorhanden war, welches keinen antenatalen Glucocorticoiden oder Placebo exponiert war.

Auch in einer prospektiven Studie von NG P.C. et al. (41) konnte nur ein transienter suppressiver Effekt einer antenatalen Dexamethasongabe auf die HPA- Achsen- Funktion bei sehr kleinen Frühgeborenen (< 1500g) nachweisen werden. Während die Frühgeborenen mit ein- oder zweimaliger LRI mit Dexamethason am 7. postpartalen Tag signifikant verminderte basale und CRH- stimulierte Cortisolwerte im Vergleich zum Kontrollkollektiv zeigten, war dieser Effekt am 14. postpartalen Tag nicht mehr nachweisbar. Kinder mit mehr als 2 LRI- Gaben zeigten hingegen keine Unterschiede zum Kontrollkollektiv.

Es konnte jedoch gezeigt werden, dass die HPA- Achsen- Funktion insbesondere durch intensivmedizinische Behandlungen mit beeinflusst wird.

Der Grund für diese unterschiedlichen Resultate ist unklar, könnte aber möglicherweise an den unterschiedlichen Stimulationstests liegen, welche in den Studien verwendet wurden. In der Tat konnte gezeigt werden, dass das HPA- Achsen- System eine unterschiedliche Sensitivität für verschiedene Stimulationstests hat. Zudem wurden in den Studien unterschiedliche Steroide (Dexamethason oder Betamethason) verwendet, oder heterogene Kollektive analysiert.

Geschlechtsspezifische Veränderungen der HPA- Achsen- Funktion

Es gibt Hinweise in der Literatur, dass antenatale Glucocorticoide die HPA- Achsen- Funktion geschlechtsspezifisch verändern könnten.

Liu et al. 2001 (37) zeigten bei Meerschweinchen, dass mehrere antenatale Behandlungen der Mutter mit synthetischen Glucocorticoiden die HPA- Funktion der jungen postpubertalen (ca. 75 Tage alt) Tiere in einer geschlechtsspezifischen Weise verändern. Die männlichen Nachkommen wiesen signifikant reduzierte basale und aktivierte Plasmacortisolwerte auf, assoziiert mit einer verminderten hippocampalen MR mRNA- Expression. Im Gegensatz dazu zeigten die weiblichen Nachkommen in der Follikel- und frühen Lutealphase signifikant erhöhte basale und aktivierte Plasmacortisolwerte. In der späten Lutealphase der weiblichen Tiere waren diese Effekte jedoch rückläufig.

In einer weiteren Studie an Meerschweinchen (17) zeigten männliche Tiere am 18. postnatalen Tag erhöhte Ruheplasmacortisolkonzentrationen, nicht jedoch die weiblichen Tiere. Diese zeigten hingegen eine signifikant verminderte Cortisolantwort auf einen Stressreiz (Isolierung von der Mutter), während die männlichen Tiere mit keiner weiteren Erhöhung der Cortisolwerte auf den Stressreiz reagierten. Ferner zeigten die weiblichen Tiere eine signifikant verminderte hippocampale GR mRNA- Expression. Im Gegensatz dazu war die GR mRNA- Expression im Hippocampus bei den männlichen Tieren signifikant erhöht. Die MR mRNA- Expression im limbischen System und die GR mRNA- Expression in der pars distalis waren dabei unverändert.

Ebenfalls an Meerschweinchen konnte gezeigt werden, dass repetitive pränatale Dexamethason- Expositionen die fetalen Plasmacortisolkonzentrationen signifikant, dosisabhängig, in beiden Geschlechtern vermindern. Je höher die verabreichte Dosis war, desto geringer war die Plasmacortisolkonzentration in Ruhe. Auch war die hypothalamische CRH mRNA- Expression bei beiden Geschlechtern vermindert. Bei den weiblichen Tieren

war zusätzlich die MR mRNA- Expression im Hippocampus und Gyrus dentatus vermindert, bei unveränderter GR mRNA- Expression im Hypothalamus und Hippocampus. Bei den männlichen Tieren zeigte sich hingegen eine kleine aber signifikante Verminderung der GR mRNA- Expression in limbischen System (40).

Der Grund für diesen biphasischen Effekt in männlichen und weiblichen Feten ist unklar, aber er weist darauf hin, dass der MR in beiden Geschlechtern verschieden reguliert sein könnte und/ oder, dass das limbische Corticosteroidrezeptor- System sich in Weibchen und Männchen zu verschiedenen Zeiten entwickelt.

In der vorliegenden Arbeit wurde der mögliche geschlechtsspezifische Einfluss auf die HPA- Achse am 3. – 4. postnatalen Tag mit einer multiplen, schrittweisen Regression untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass das Geschlecht keinen signifikanten Einfluss auf die Cortisolwerte hatte. Ein möglicher Grund dafür könnte sein, dass bei Neugeborenen die geschlechtsspezifischen Hormone noch nicht spezifisch wirken. Die oben beschriebenen Studien wurden mit pubertären und postpubertären Meerschweinchen durchgeführt. Es ist nicht auszuschliessen, dass die geschlechtsspezifischen Hormone einen Einfluss auf die HPA- Achse in der Adoleszenz und im Erwachsenenalter ausüben. So wird vermutet, dass die geschlechtsspezifische Reaktivität des HPA- Achsen- Systems durch unterschiedliche Konzentrationen des Corticosteroid- binding- globulin und der unterschiedlichen Sexualhormone beeinflusst sein könnte (31).

Vor dem Hintergrund der unterschiedlichen Studienergebnissen ist davon auszugehen, dass die Wirkung antenataler Glucocorticoide auf die HPA- Achsen- Funktion speziesspezifisch von der Dosierung und der Expositionszeit abhängt und zu altersabhängigen Veränderungen führt. Zudem beeinflussen antenatale Corticosteroide die HPA- Achsen- Funktion zumindest in gewissen Spezies geschlechtsspezifisch.

Die Resultate unsere Studie zeigen, dass eine einmalige Lungenreifungsinduktion mit 2x12mg Betamethason wegen der Gefahr einer Frühgeburt vor der 34. SSW bei Neugeborenen am 4. postpartalen Tag eine Suppression der HPA- Achsen- Aktivität induziert welche mindestens 8 Wochen nach Administration persistiert. Verschiedene Studien geben Grund zu der Vermutung, dass diese Veränderungen durch Alterationen der zerebralen Steroid Rezeptorarchitektur dauerhaft persistieren könnten.

Es ist jedoch zu beachten, dass die hier dargestellten Befunde eine Momentaufnahme darstellen, die zwar einen signifikanten suppressiven Effekt einer LRI auf die HPA- Achsen- Reaktivität belegen aber keine Aussage über die postnatale Entwicklung der HPA- Achse über Jahre machen kann. Zur Beurteilung, ob die einmalige LRI tatsächlich zu einer lebenslang persistierenden Veränderung der HPA- Achsen- Aktivität führt und damit ein potenzielles Risiko für die Entstehung von Erkrankungen im Erwachsenenalter wie eine arterielle Hypertonie oder Diabetes mellitus darstellt, ist durch Langzeitstudien zu klären.

6. Literaturverzeichnis

1. **Altman D.** *Practical statistics for medical research*. London: Chapman & Hall, 1991.
2. **Antonow-Schlorke I, Schwab M, Li C, and Nathanielsz PW.** Glucocorticoid exposure at the dose used clinically alters cytoskeletal proteins and presynaptic terminals in the fetal baboon brain. *J Physiol* 547: 117-123, 2003.
3. **Arai Y and Gorski RA.** Critical exposure time for androgenization of the developing hypothalamus in the female rat. *Endocrinology* 82: 1010-1014, 1968.
4. **Ashwood PJ, Crowther CA, Willson KJ, Haslam RR, Kennaway DJ, Hiller JE, and Robinson JS.** Neonatal adrenal function after repeat dose prenatal corticosteroids: a randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol* 194: 861-867, 2006.
5. **Barker DJ.** Fetal programming of coronary heart disease. *Trends Endocrinol Metab* 13: 364-368, 2002.
6. **Barker DJ, Eriksson JG, Forsen T, and Osmond C.** Fetal origins of adult disease: strength of effects and biological basis. *Int J Epidemiol* 31: 1235-1239, 2002.
7. **Battin MR, Bevan C, and Harding JE.** Repeat doses of antenatal steroids and hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA) function. *Am J Obstet Gynecol* 197: 40 e41-46, 2007.
8. **Bauer CR, Morrison JC, Poole WK, Korones SB, Boehm JJ, Rigatto H, and Zachman RD.** A decreased incidence of necrotizing enterocolitis after prenatal glucocorticoid therapy. *Pediatrics* 73: 682-688, 1984.
9. **Benediktsson R, Calder AA, Edwards CR, and Seckl JR.** Placental 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase: a key regulator of fetal glucocorticoid exposure. *Clin Endocrinol (Oxf)* 46: 161-166, 1997.
10. **Burlet G, Fernet B, Blanchard S, Angel E, Tankosic P, Maccari S, and Burlet A.** Antenatal glucocorticoids blunt the functioning of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of neonates and disturb some behaviors in juveniles. *Neuroscience* 133: 221-230, 2005.
11. **Calixto C, Martinez FE, Jorge SM, Moreira AC, and Martinelli CE, Jr.** Correlation between plasma and salivary cortisol levels in preterm infants. *J Pediatr* 140: 116-118, 2002.
12. **Crowley PA.** Antenatal corticosteroid therapy: a meta-analysis of the randomized trials, 1972 to 1994. *Am J Obstet Gynecol* 173: 322-335, 1995.
13. **Dalziel SR, Lim VK, Lambert A, McCarthy D, Parag V, Rodgers A, and Harding JE.** Antenatal exposure to betamethasone: psychological functioning and health related quality of life 31 years after inclusion in randomised controlled trial. *Bmj* 331: 665, 2005.
14. **Dalziel SR, Walker NK, Parag V, Mantell C, Rea HH, Rodgers A, and Harding JE.** Cardiovascular risk factors after antenatal exposure to betamethasone: 30-year follow-up of a randomised controlled trial. *Lancet* 365: 1856-1862, 2005.
15. **Davis EP, Townsend EL, Gunnar MR, Georgieff MK, Guiang SF, Cifuentes RF, and Lussky RC.** Effects of prenatal betamethasone exposure on regulation of stress physiology in healthy premature infants. *Psychoneuroendocrinology* 29: 1028-1036, 2004.
16. **Davis EP, Townsend EL, Gunnar MR, Guiang SF, Lussky RC, Cifuentes RF, and Georgieff MK.** Antenatal betamethasone treatment has a persisting influence on infant HPA axis regulation. *J Perinatol* 26: 147-153, 2006.
17. **Dean F, Yu C, Lingas RI, and Matthews SG.** Prenatal glucocorticoid modifies hypothalamo-pituitary-adrenal regulation in prepubertal guinea pigs. *Neuroendocrinology* 73: 194-202, 2001.
18. **Dobbing J and Sands J.** Comparative aspects of the brain growth spurt. *Early Hum Dev* 3: 79-83, 1979.
19. **Dotsch J, Hohenberger I, Peter M, Sippell W, and Dorr HG.** Evidence for change of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity during infancy and childhood. *Pediatr Res* 48: 697-700, 2000.
20. **French NP, Hagan R, Evans SF, Mullan A, and Newnham JP.** Repeated antenatal corticosteroids: effects on cerebral palsy and childhood behavior. *Am J Obstet Gynecol* 190: 588-595, 2004.

21. **Glover V, Miles R, Matta S, Modi N, and Stevenson J.** Glucocorticoid exposure in preterm babies predicts saliva cortisol response to immunization at 4 months. *Pediatr Res* 58: 1233-1237, 2005.
22. **Gunnar MR.** Reactivity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system to stressors in normal infants and children. *Pediatrics* 90: 491-497, 1992.
23. **Gunnar MR.** Studies of the human infant's adrenocortical response to potentially stressful events. *New Dir Child Dev*: 3-18, 1989.
24. **Gunnar MR and Donzella B.** Social regulation of the cortisol levels in early human development. *Psychoneuroendocrinology* 27: 199-220, 2002.
25. **Gustafsson JA, Mode A, Norstedt G, and Skett P.** Sex steroid induced changes in hepatic enzymes. *Annu Rev Physiol* 45: 51-60, 1983.
26. **Herrington CJ, Olomu IN, and Geller SM.** Salivary Cortisol As Indicators of Pain in Preterm Infants: A Pilot Study. *Clin Nurs Res* 13: 53-68, 2004.
27. **Kahn JP, Rubinow DR, Davis CL, Kling M, and Post RM.** Salivary cortisol: a practical method for evaluation of adrenal function. *Biol Psychiatry* 23: 335-349, 1988.
28. **Kapoor A, Petropoulos S, and Matthews SG.** Fetal programming of hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis function and behavior by synthetic glucocorticoids. *Brain Res Rev* 57: 586-595, 2008.
29. **Kirschbaum C and Hellhammer DH.** Salivary cortisol in psychobiological research: an overview. *Neuropsychobiology* 22: 150-169, 1989.
30. **Krozowski ZS and Funder JW.** Renal mineralocorticoid receptors and hippocampal corticosterone-binding species have identical intrinsic steroid specificity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 80: 6056-6060, 1983.
31. **Kudielka BM, Buske-Kirschbaum A, Hellhammer DH, and Kirschbaum C.** HPA axis responses to laboratory psychosocial stress in healthy elderly adults, younger adults, and children: impact of age and gender. *Psychoneuroendocrinology* 29: 83-98, 2004.
32. **Levine S.** Infantile experience and resistance to physiological stress. *Science* 126: 405, 1957.
33. **Leviton A, Kuban KC, Pagano M, Allred EN, and Van Marter L.** Antenatal corticosteroids appear to reduce the risk of postnatal germinal matrix hemorrhage in intubated low birth weight newborns. *Pediatrics* 91: 1083-1088, 1993.
34. **Levitt NS, Lambert EV, Woods D, Hales CN, Andrew R, and Seckl JR.** Impaired glucose tolerance and elevated blood pressure in low birth weight, nonobese, young south african adults: early programming of cortisol axis. *J Clin Endocrinol Metab* 85: 4611-4618, 2000.
35. **Levitt NS, Lindsay RS, Holmes MC, and Seckl JR.** Dexamethasone in the last week of pregnancy attenuates hippocampal glucocorticoid receptor gene expression and elevates blood pressure in the adult offspring in the rat. *Neuroendocrinology* 64: 412-418, 1996.
36. **Lewis M and Ramsay DS.** Developmental change in infants' responses to stress. *Child Dev* 66: 657-670, 1995.
37. **Liu L, Li A, and Matthews SG.** Maternal glucocorticoid treatment programs HPA regulation in adult offspring: sex-specific effects. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 280: E729-739, 2001.
38. **Magnano CL, Diamond EJ, and Gardner JM.** Use of salivary cortisol measurements in young infants: a note of caution. *Child Dev* 60: 1099-1101, 1989.
39. **Mantagos S, Koulouris A, and Vagenakis A.** A simple stress test for the evaluation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis during the first 6 months of life. *J Clin Endocrinol Metab* 72: 214-216, 1991.
40. **McCabe L, Marash D, Li A, and Matthews SG.** Repeated antenatal glucocorticoid treatment decreases hypothalamic corticotropin releasing hormone mRNA but not corticosteroid receptor mRNA expression in the fetal guinea-pig brain. *J Neuroendocrinol* 13: 425-431, 2001.
41. **Ng PC, Wong GW, Lam CW, Lee CH, Wong MY, Fok TF, Wong W, and Chan DC.** Pituitary-adrenal response in preterm very low birth weight infants after treatment with antenatal corticosteroids. *J Clin Endocrinol Metab* 82: 3548-3552, 1997.

42. **Phillips DI, Bennett FI, Wilks R, Thame M, Boyne M, Osmond C, and Forrester TE.** Maternal body composition, offspring blood pressure and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Paediatr Perinat Epidemiol* 19: 294-302, 2005.
43. **Price DA, Close GC, and Fielding BA.** Age of appearance of circadian rhythm in salivary cortisol values in infancy. *Arch Dis Child* 58: 454-456, 1983.
44. **Rauh M, Groschl M, Rascher W, and Dorr HG.** Automated, fast and sensitive quantification of 17 alpha-hydroxy-progesterone, androstenedione and testosterone by tandem mass spectrometry with on-line extraction. *Steroids* 71: 450-458, 2006.
45. **Santiago LB, Jorge SM, and Moreira AC.** Longitudinal evaluation of the development of salivary cortisol circadian rhythm in infancy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 44: 157-161, 1996.
46. **Seckl JR.** Prenatal glucocorticoids and long-term programming. *Eur J Endocrinol* 151 Suppl 3: U49-62, 2004.
47. **Simerly RB.** Wired for reproduction: organization and development of sexually dimorphic circuits in the mammalian forebrain. *Annu Rev Neurosci* 25: 507-536, 2002.
48. **Sinclair JC.** Meta-analysis of randomized controlled trials of antenatal corticosteroid for the prevention of respiratory distress syndrome: discussion. *Am J Obstet Gynecol* 173: 335-344, 1995.
49. **Sloboda DM, Moss TJ, Gurrin LC, Newnham JP, and Challis JR.** The effect of prenatal betamethasone administration on postnatal ovine hypothalamic-pituitary-adrenal function. *J Endocrinol* 172: 71-81, 2002.
50. **Sloboda DM, Moss TJ, Li S, Doherty D, Nitsos I, Challis JR, and Newnham JP.** Prenatal betamethasone exposure results in pituitary-adrenal hyporesponsiveness in adult sheep. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 292: E61-70, 2007.
51. **Stahl F, Amendt P, and Dorner G.** Total and free cortisol plasma levels in pre- and postnatal life. *Endokrinologie* 74: 243-246, 1979.
52. **Steer P.** The epidemiology of preterm labor--a global perspective. *J Perinat Med* 33: 273-276, 2005.
53. **Tronche F, Kellendonk C, Kretz O, Gass P, Anlag K, Orban PC, Bock R, Klein R, and Schutz G.** Disruption of the glucocorticoid receptor gene in the nervous system results in reduced anxiety. *Nat Genet* 23: 99-103, 1999.
54. **Umeda T, Hiramatsu R, Iwaoka T, Shimada T, Miura F, and Sato T.** Use of saliva for monitoring unbound free cortisol levels in serum. *Clin Chim Acta* 110: 245-253, 1981.
55. **Uno H, Eisele S, Sakai A, Shelton S, Baker E, DeJesus O, and Holden J.** Neurotoxicity of glucocorticoids in the primate brain. *Horm Behav* 28: 336-348, 1994.
56. **Uno H, Lohmiller L, Thieme C, Kemnitz JW, Engle MJ, Roecker EB, and Farrell PM.** Brain damage induced by prenatal exposure to dexamethasone in fetal rhesus macaques. I. Hippocampus. *Brain Res Dev Brain Res* 53: 157-167, 1990.
57. **Van Marter LJ, Leviton A, Kuban KC, Pagano M, and Allred EN.** Maternal glucocorticoid therapy and reduced risk of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics* 86: 331-336, 1990.
58. **Velisek L.** Prenatal corticosteroid impact on hippocampus: implications for postnatal outcomes. *Epilepsy Behav* 7: 57-67, 2005.
59. **Ward AM, Moore VM, Steptoe A, Cockington RA, Robinson JS, and Phillips DI.** Size at birth and cardiovascular responses to psychological stressors: evidence for prenatal programming in women. *J Hypertens* 22: 2295-2301, 2004.
60. **Ward AM, Syddall HE, Wood PJ, Chrousos GP, and Phillips DI.** Fetal programming of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis: low birth weight and central HPA regulation. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 1227-1233, 2004.
61. **Welberg LA and Seckl JR.** Prenatal stress, glucocorticoids and the programming of the brain. *J Neuroendocrinol* 13: 113-128, 2001.
62. **Welberg LA, Seckl JR, and Holmes MC.** Prenatal glucocorticoid programming of brain corticosteroid receptors and corticotrophin-releasing hormone: possible implications for behaviour. *Neuroscience* 104: 71-79, 2001.

63. **Woodside DB, Winter K, and Fisman S.** Salivary cortisol in children: correlations with serum values and effect of psychotropic drug administration. *Can J Psychiatry* 36: 746-748, 1991.

7. Danksagung

Einen ganz besonderen Dank möchte ich Herrn Dr. med. Leonhard Schäffer aussprechen für seine tatkräftige Unterstützung bei dieser Arbeit. Er hatte sich jederzeit Zeit genommen für meine Fragen und Anliegen, war stets interessiert und motiviert die Arbeit voranzutreiben und bereit das Korrekturlesen zu übernehmen.

Danken möchte ich auch Herrn Prof. Dr. med. Ernst Beinder für die Realisierung dieser Arbeit zur Erwerbung der Doktorwürde, sowie für die Teilnahme am SGGG Kongress in Interlaken.

Ein grosses Dankeschön auch an Dr. med. Tilo Burkhardt für die aufwendigen statistischen Arbeiten.

Weiter möchte ich mich auch bei meiner Vorgängerin Deborah Müller Vinzentini ganz herzlich bedanken für die Einführung in die Praxis der Speichelprobenentnahme sowie für die Übernahme ihres gesammelten Kollektives an Kindern aus der Kontroll- Gruppe.

Auch dem Pflegepersonal des Wochenbetts und den Ärzten der Neonatologie der Frauenklinik Zürich möchte ich ganz herzlich danken für die gute Zusammenarbeit, für ihre Flexibilität und Kooperation.

Danke auch allen Eltern für die Aufnahme ihrer neugeborenen Kinder als Probanden in meine Studie.

Und nicht zu letzt möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken für die Unterstützung zur Realisierung meines Wunschberufes und dass sie stets an mich glaubten und auch in schweren Zeiten zu mir gehalten haben.

Auch ein Dankeschön an meinen Freund Beni Michael für sein Verständnis und seine Geduld zur Realisierung dieser Arbeit und meiner langwierigen Ausbildung.

8. Lebenslauf

Name	Franziska Luzi Michael
Geburtsdatum	13. August 1980
Geburtsort	Fontana Spital in Chur, Schweiz
Heimatort	Tomils und Casti- Wergenstein, Schweiz

Schulische und universitäre Ausbildung

1987 – 1993	Primarschule in Avers – Cresta
1993 – 1996	Sekundarschule in Andeer
1996 – 2001	Kantonsschule in Chur (Matura Typ E)
2001 – 2009	Medizinstudium an der Universität Zürich
2007/2008	praktisches Jahr, davon: <ul style="list-style-type: none">- 2 Monate Pädiatrie Kantonsspital Chur- 4 Monate Innere Medizin Kantonsspital Chur- 1 Monat Gynäkologie und Geburtshilfe im Spital Winterthur- 1 Monat ORL Kantonsspital Aarau- 2 Monate orthopädische Chirurgie Klinik Gut, St. Moritz
09/2009	Staatsexamen an der Universität Zürich